

DIK RUTIN



LAPORAN KEGIATAN

JUDUL PENELITIAN :
AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI METANOL KAYU
ANGIN (*Usnea misaminensis* (Vain) Not) TERHADAP
Mycobacterium Tuberculosis H37Rv

Oleh :
drh. Dwi Sutiningsih, MKes
Dra. Sulistyani, MKes

Dibiayai dengan dana DIPA Universitas Diponegoro Nomor : 061.0/23-4.0/XIII/2005 Kode 5584-0036 MAK 521114, sesuai dengan Perjanjian Tugas Pelaksanaan Penelitian Para Dosen Universitas Diponegoro, Nomor : 07A/J07.11/PG/2005, tanggal 10 Mei 2005

FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT
UNIVERSITAS DIPONEGORO
OKTOBER 2005

UPT-PUSTAK-UNDIP
No. Daft: 070/KI/FKM/0
Tgl. 2-5-06

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR
PENELITIAN DIK RUTIN**

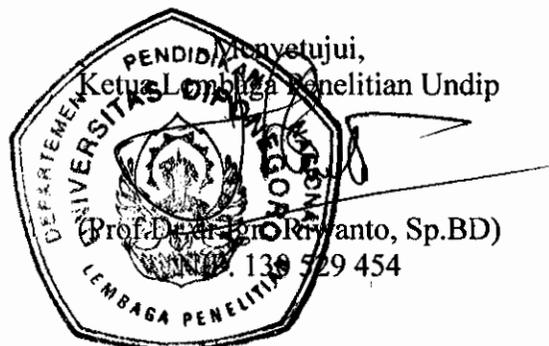
- 1.a. Judul Penelitian : Aktivitas antibakteri fraksi metanol kayu angin (*Usnea misaminensis* (Vain) Not) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv
- b. Bidang Ilmu : Kesehatan
- c. Kategori Penelitian : penerapan Iptek
2. Ketua Peneliti :
- a. Nama Lengkap & Gelar : drh. Dwi Sutningsih, MKes
- b. Jenis Kelamin : perempuan
- c. Pangkat/Golongan/NIP : Penata Muda Tk I/IIIb/ 132 205 000
- d. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
- e. Fakultas : Kesehatan masyarakat
- f. Universitas : Diponegoro
- g. Bidang Ilmu yang Diteliti : Kesehatan
3. Jumlah Tim Peneliti : 2 orang
4. Lokasi Penelitian : Semarang
5. Kerja sama dengan instansi lain : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 6 (enam) bulan
7. Biaya yang Diperlukan : Rp. 3.000.000,-
(Tiga juta rupiah)



Semarang, 10 Oktober 2005

Ketua Peneliti,

(drh. Dwi Sutningsih, MKes)
NIP. 132 205 000



RINGKASAN

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI METANOL KAYU ANGIN (*Usnea misaminensis* (Vain.) Not) TERHADAP *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

**Dwi Sutiningsih, Sulistyani
Tahun 2005**

Tuberkulosis (TB) di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia merupakan salah satu masalah kesehatan yang utama. Meskipun sudah lebih dari 100 tahun penemuan mikroorganisme penyebab TB, TB masih merupakan masalah kesehatan di dunia. Diperkirakan sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi *M. tuberculosis*, dan sekitar 3 juta kematian terjadi disebabkan oleh TB. TB menjadi penyebab kematian utama di dunia (Raviglione dkk., 1995). Akhir-akhir ini jumlah kasus TB di dunia meningkat karena adanya epidemi infeksi HIV / AIDS dan karena problema sosial lainnya, termasuk malnutrisi. Angka penderita infeksi TB juga cenderung meningkat sejalan dengan pesatnya laju pertumbuhan penduduk disertai kemiskinan yang tinggi (Tjai & Rahardja, 1986). Menurut Moeloeck (1999), tuberkulosis merupakan penyebab kematian urutan ketiga di Indonesia setelah penyakit jantung dan saluran pernafasan. Di Indonesia diperkirakan terjadi 175.000 kematian per tahun oleh karena TB (Depkes, 1995).

Kayu angin (*U. misaminensis*) merupakan tanaman yang telah dikenal di Asia tenggara untuk mengobati penyakit TB. Sebagian besar masyarakat Indoneisa menggunakan kayu angin sebagai obat untuk melarutkan lemak yang berlebihan, obat penyakit TB, memperbaiki pencernaan, obat sakit perut, bisul, borok, disentri dan sariawan (Taryono, 2000). Namun sampai sekarang belum diketahui senyawa apa yang terkandung dalam kayu angin yang mempunyai efek antibakteri terhadap tuberkulosis.

Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji aktivitas antibakteri fraksi metanol kayu angin terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, sekaligus menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi tersebut yang menunjukkan aktivitas antibakteri.

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan alat Soxhlet. Serbuk kayu angin kurang lebih 35 gram dimasukkan dalam Soxhlet, kemudian disari dengan kloroform (senyawa non polar) hingga warna bening. Sari kloroform (ekstrak) disimpan sedangkan ampas serbuk dikeringkan, selanjutnya disari kembali dengan menggunakan metanol sehingga warna pelarut bening, hasil penyarian ini disebut sari atau fraksi metanol kayu angin. Kemudian diuapkan diatas penangas air hingga hampir kering dan tak berbau metanol. Pada akhirnya fraksi tersebut dievaporasi di dalam *freeze dryer vaccum* hingga diperoleh fraksi kering. Selanjutnya fraksi metanol kayu angin diujikan pada *M. tuberculosis* H37Rv. Pada uji ini dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama, dengan kadar yang relatif besar yakni 1,25; 2,5 dan 5% b/v larutan sari/fraksi metanol kayu angin. Dengan memakai dua kontrol yakni media LJ ditambah pelarut dan media LJ tanpa penambahan pelarut (metanol). Setelah inkubasi selama 3 minggu pada temperatur 37 °C, kemudian dilihat hasilnya berapa kadar sampel terkecil yang dapat membunuh bakteri dan berapa jumlah pelarut (metanol) terbesar yang tidak merusak media maupun membunuh bakteri. Pada tahap kedua, fraksi metanol kayu angin kurang lebih 100 µl dilarutkan dalam 1 ml metanol, dibuat 5 seri kadar yaitu 1,25; 1,0; 0,5; 0,25 dan 0,125% b/v dengan volume setiap tabung 125 µl, kemudian ditambahkan media LJ hingga volumenya sampai 5 ml. Kemudian masing-masing tabung ditambahkan 100 µl suspensi kuman. Dua tabung kontrol diperlakukan sama yakni tabung berisi media saja tanpa pelarut metanol dan tabung berisi media ditambah pelarut metanol. Tabung-tabung tersebut diinkubasi selama 3 minggu pada temperatur 37 °C. Setelah 3 minggu diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri. Untuk menentukan golongan senyawa dalam fraksi aktif digunakan Kromatografi lapis tipis (KLT) dengan penampak bercak sinar UV 254. Nilai Rf bercak diukur dan perubahan warna yang terjadi diamati.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata persentase kematian *M. tuberculosis* pada uji tahap I dan II dari fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi menunjukkan hasil yang berbeda. Kemampuan maksimal fraksi metanol kayu angin dalam mematikan *M. tuberculosis* pada uji tahap I dan II mencapai 95% baik terhadap kontrol tanpa pelarut dan dengan pelarut metanol, dan dicapai pada konsentrasi tertinggi yaitu 5 % b/v dan 1,25 % b/v. Penggunaan pelarut metanol dalam uji ini tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan *M. tuberculosis*. Pada percobaan uji aktivitas

antibakteri ini ditentukan parameter nilai LC_{50} yakni konsentrasi yang mampu menghasilkan kematian sel hingga 50%. Rerata nilai LC_{50} fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dari uji tahap II terhadap *M. tuberculosis* H37Rv lebih kecil ($p < 0,05$) dibandingkan dengan uji tahap I (LC_{50} sebesar 0,09 % b/V). Hal ini menunjukkan efek antibakteri fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dari uji tahap II cukup tinggi terhadap *M. tuberculosis* H37Rv. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif antibakteri terdapat pada fraksi metanol kayu angin dan senyawa tersebut larut baik dalam pelarut metanol.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) mempunyai efek antibakteri terhadap kultur *M. tuberculosis* H37Rv dan dicapai pada konsentrasi 0,09 % b/v. Fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) mengandung senyawa terpenoid, flavonoid dan golongan antrakinon yang berperan sebagai antibakteri. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui toksisitas akut dan sub akut pada hewan coba untuk mengkaji lebih jauh keamanan penggunaan tanaman tersebut sebagai antibakteri dalam pengobatan terhadap *M. tuberculosis*.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah s.w.t., karena atas karuniaNya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis ini.

Dalam penelitian dan penulisan ini, penulis banyak memperoleh bantuan dari berbagi pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro, yang telah memfasilitasi dan memberikan dukungan dalam penyusunan proposal hingga pelaksanaan penelitian ini.
2. dr. Ludfi Santoso, MSC, DTM & H, selaku Dekan Fakultas Kesehatan Masyarakat UNDIP, yang telah memberikan izin untuk melaksanakan penelitian.
3. Segenap staf laboratorium Pusat Pengembangan Obat Tradisional (PPOT) Yogyakarta yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
4. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah membantu pelaksanaan penelitian sampai selesainya penulis tesis ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan naskah ini masih banyak kekurangan. Oleh sebab itu penulis akan sangat berterimakasih atas segala saran dan kritik yang membangun dari pembaca untuk perbaikan dan penyempurnaan tesis ini. Akhir kata, semoga tesis ini dapat bermanfaat.

Yogyakarta, Oktober 2005

Ttd

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN DAN <i>SUMMARY</i>	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
I. PENDAHULUAN.....	1
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	2
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	5
IV. METODE PENELITIAN.....	6
V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	10
VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	15
DAFTAR PUSTAKA	16
LAMPIRAN.....	18

DAFTAR TABEL

- Tabel 1. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap I setelah pemberian fraksi metanol metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol tanpa pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C .
- Tabel 2. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap I setelah pemberian fraksi metanol metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol tanpa pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C .
- Tabel 3. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap II setelah pemberian fraksi metanol metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol tanpa pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C
- Tabel 4. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap II setelah pemberian fraksi metanol metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol dengan pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C .
- Tabel 5. Harga *Letal Concentration* 50 (LC₅₀) fraksi metanol kayu angin pada kultur *M. tuberculosis* H37Rv (% b/v

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1. Skema kerangka konsep aktivitas antibakteri fraksi metanol kayu angin terhadap kultur *M. tuberculosis* H37Rv
- Gambar 2. Kurva profil pertumbuhan *M. tuberculosis* tanpa perlakuan (kontrol negatif) dan dengan kontrol media yang mengandung pelarut metanol pada uji tahap I
- Gambar 3. Kurva profil pertumbuhan *M. tuberculosis* tanpa perlakuan (kontrol negatif) dan dengan kontrol media yang mengandung pelarut metanol pada uji tahap II
- Gambar 4. Grafik hubungan antara konsentrasi dan persentase kematian *M. tuberculosis* setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi pada uji tahap I
- Gambar 5. Grafik hubungan antara konsentrasi dan persentase kematian *M. tuberculosis* setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi pada uji tahap II

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Rata-rata jumlah sel bakteri *M. tuberculosis* H37Rv yang hidup setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi selama 3 minggu dibandingkan kontrol tanpa pelarut dan dengan pelarut pada uji tahap I dan II
- Lampiran 2. Penghitungan Nilai *Letal Concentration* 50 (LC₅₀) fraksi metanol kayu angin pada uji tahap I Dengan Analisis Probit
- Lampiran 3. Penghitungan Nilai *Letal Concentration* 50 (LC₅₀) fraksi metanol kayu angin pada uji tahap II Dengan Analisis Probit
- Lampiran 4. Hasil analisis statistik dengan Anava pada *M. tuberculosis* H37Rv setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi pada uji tahap I
- Lampiran 5. Hasil analisis statistik dengan Anava pada *M. tuberculosis* H37Rv setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi pada uji tahap II
- Lampiran 6. Personalia penelitian

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Tuberkulosis (TB) di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia merupakan salah satu masalah kesehatan yang utama. Meskipun sudah lebih dari 100 tahun penemuan mikroorganisme penyebab TB, TB masih merupakan masalah kesehatan di dunia. Diperkirakan sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi *M. tuberculosis*, dan sekitar 3 juta kematian terjadi disebabkan oleh TB. TB menjadi penyebab kematian utama di dunia (Raviglione dkk., 1995). Akhir-akhir ini jumlah kasus TB di dunia meningkat karena adanya epidemi infeksi HIV / AIDS dan karena problema sosial lainnya, termasuk malnutrisi. Angka penderita infeksi TB juga cenderung meningkat sejalan dengan pesatnya laju pertumbuhan penduduk disertai kemiskinan yang tinggi (Tjai & Rahardja, 1986). Menurut Moeloek (1999), tuberkulosis merupakan penyebab kematian urutan ketiga di Indonesia setelah penyakit jantung dan saluran pernafasan. Di Indonesia diperkirakan terjadi 175.000 kematian per tahun oleh karena TB (Depkes, 1995).

Mycobacterium tuberculosis masuk ke dalam tubuh manusia melalui udara ke pernafasan dalam paru, kemudian menyebar ke bagian tubuh lain melalui peredaran darah (Sukana dkk, 2000). Bakteri ini mempunyai sifat yang berbeda dengan kuman lain yaitu sifat pertumbuhannya yang lambat dan kandungan lipid yang tinggi dalam dinding sel sehingga sulit ditembus oleh zat kimia (Mutchler, 1991). Selain itu kuman TB tergolong kuman tahan asam, sehingga merupakan problem di dalam pengobatannya dan tantangan untuk bidang kemoterapi (Gan dkk, 1887). Di samping itu, pengobatan TB memerlukan jangka waktu yang cukup lama, sehingga diperlukan biaya yang besar, juga dapat menimbulkan efek samping. Oleh karena itu diperlukan suatu obat yang lebih murah dan mengurangi resistensi yang dapat menghambat atau membunuh bakteri TB, salah satunya melalui penelitian terhadap tanaman obat. Dari aspek farmakologi salah satu upaya yang sudah dirintis sejak jaman dulu adalah pemanfaatan fitofarmaka, menggali kandungan zat/unsur kimiawi dalam tumbuh-tumbuhan yang potensial dapat dipakai sebagai obat.

Kayu angin (*U. misaminensis*) merupakan tanaman yang telah dikenal di Asia tenggara untuk mengobati penyakit TB. Sebagian besar masyarakat Indoneisa